Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 1, Spring 2020, p. 125-133

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹، ص. ۱۳۳-۱۲۵

بررسی اثر چند ریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543 ژن LCORL براندازه بدنی اسب عرب ایرانی

زیبا ابریشمی مقدم[۱] ، سید محسن میراسماعیلی[۲]، مرتضی بیطرف ثانی[۳*] ، سید مرتضی سیفتی[۴]

تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۱۱/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۴

چکیده

اندازه بدنی یکی از ویژگی‌های مهم برای ارزیابی و دسته‌بندی اسب‌ها می‌باشد. تجزیه و تحلیل‌های انجام شده با مطالعات پویش کل ژنومی نشان داده است که اسنیپ BIEC2-808543 (SNP) یکی از مهمترین چند ریختی های تک نوکلئوتیدی مرتبط با ارتفاع و اندازه بدن اسب‌ها است. در این مطالعه، تعیین ژنوتایپ BIEC2-808543 برای ۱۴۱نمونه اسب اصیل عرب به وسیله PCR-RFLP صورت گرفت. پس از استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی در ژن LCORL انجام شد. محصول PCR تحت تاثیر آنـزیم برشـی Alu1 در واکـنش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتایپ نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که الل T در اسب عرب تثبیت شده است و بر این اساس فقـط یـک اسب با ژنوتایپ CT یافت شد و بقیه دارای ژنوتیپ TT بودند. میزان F_{ST} برآورد شده حاکی از این است کـه توزیـع فراوانـی آللـی و ژنـوتیپی اسـنیپ BIEC2-808543 در دو نوع اسب رده‌های کورس و زیبایی یکسان می‌باشد. مقایسه امتیازات داوری، نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین امتیاز دست و پا و گردن در بین اسب‌های کورس و غیر کورس نمی‌باشد. در این مطالعه مشخص شد که اندازه دور قفسه سینه در اسب‌های کورس بیشـتر از اسـب های غیر کورس است و این اختلاف معنی‌دار بود.

واژه‌های کلیدی: اسب عرب، اندازه بدنی، BIEC2-808543، LCORL

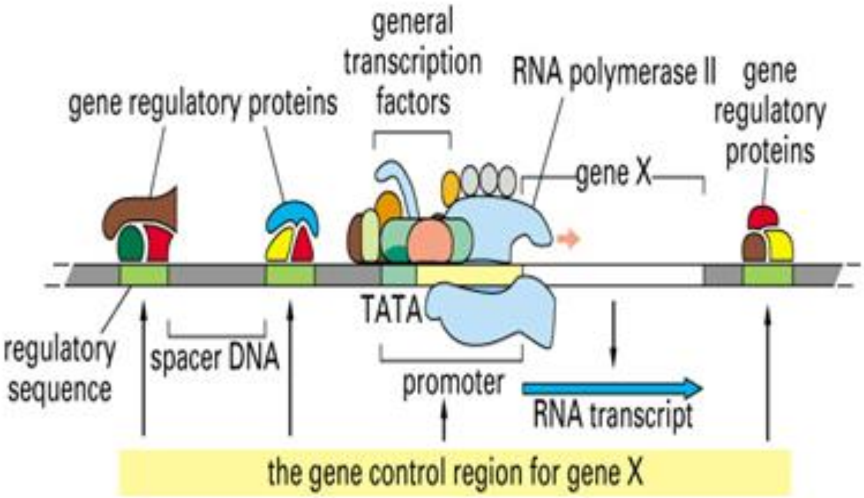
مقدمه

ارتفاع بدن یکی از صفات مهم پرورش حیوانات بـوده و ارتفـاع از جدوگاه شاخصی برای تفکیـک درون گونـه‌ای اسـت (۴). مطالعـات GWAS[۲]نشان می‌دهد که ژن LCORL[۳] یـک فـاکتور رونویسـی را به رمز در می‌آورد که چند ریختی های تک نوکلئوتیدی آن بـا انـدازه چارچوب اسکلتی و ارتفاع بدن مرتبط هستند. اخیرا اسـنیپ BIEC2-808543 در جایگاه بالادست ژن LCORL شناسایی شده اسـت کـه یک نشانگر تشخیصی ژنتیکی مرتبط با ارتفاع از جـدوگاه و همچنـین طول استخوان کانن(Cannon) در اسب‌هـای تروبـرد[۴]اسـت (12). در بالادست جایگاه ژن LCORL در کروموزوم سه، مکان ژنـی کنتـرل کننده (QTL[۵]) ی وجود دارد که با ارتفاع از جدوگاه، ترکیب پا، طـول کپل، سر و فک اسب ارتباط دارند (۱۰).

ژن LCORL در اسب نقشه‌یابی شده است بـه طـوری کـه روی کروموزوم شماره سـه (ECA3) واقـع شـده و درفاصـله حـدود ۱۰۰ کیلوجفت بازی در بالادست این ژن، اسـنیپ BIEC2-808543 قـرار دارد (۶). ایـن اسـنیپ بـر اتصـال TFIID (فـاکتور رونویسـی) بـه TATA BOXاثرگذار است. در این اسنیپ چنانچه، آلل C جـایگزین الل T شود، تغییراتـی در تمایـل اتصـال TFIID بـه TATA BOX ایجاد شده (شکل۱) و این بر شناسایی TFIID توسط عنصر هسته‌ای

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد زیست سلولی و مولکولی گرایش ژنتیک، دانشگاه علم و هنر ، یزد
۲- استادیار گروه زیست شناسی، دکتری تخصصی ژنتیک مولکولی، دانشگاه علـم و هنر، یزد
۳- اسـتادیار پژوهشـی بخـش تحقیقـات علـوم دامـی، مرکـز تحقیقـات و آمـوزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشـاورزی، دکتری تخصصی اصلاح نژاد (ژنتیک کمی)، یزد، ایران
۴- استادیار گروه زیست شناسی، دکتری تخصصی ژنتیک، مرکـز تحقیقـات زیسـت فناوری پزشکی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی ، اشکذر، یزد
(*-ایمیل نویسنده مسئول:m.bitaraf@areeo.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i1.78988
2- Genome Wide Association Study
3- Ligand Dependent Nuclear Receptor Corepressor Like
4-Thoroughbred
5-Quantitative trait locus

پرومتور که اولین قدم برای شروع رونویسی mRNA است، اثر می‌گذارد. در نتیجه عوامل دیگر رونویسی از استخوان همانند AP-1یک کمپلکس رونویسی از mRNA است را تحت تاثیر قرار داده و فعال می نماید. در نتیجه رونویسی افزایش یافته و رشد استخوان‌ها توسط سه سلول استئوبلاست، استئوکلاست و کوندروسیت توسعه می یابند. تفاوت و عملکردهای این سلول‌ها توسط چندین فاکتور خاص تنظیم می‌شود که بر بیان ژن LCORL موثر است. آنالیز استخوان انسان نشان می‌دهد تعدادی از اعضای خانواده AP-1 روی این سلول ها اثر زیادی دارد. به طور کلی، فاکتورهای رونویسی، پروتئین‌های مهمی در پردازش‌های متنوع بیولوژیکی هستند (۷، ۱۲). هدف از این تحقیق بررسی توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی اسنیپ BIEC2-808543 و ارتباط آن با اندازه بدنی در اسب‌های اصیل عرب می‌باشد.



شکل ۱–نواحی کنترلی موثر در بیان ژن LCORL(2)
Figure 1- Effect of controlling regions in LCORL gene expression (2)

مواد و روش‌ها

اسب اصیل عرب

نمونه مورد مطالعه شامل ۱۵۲راس اسب اصیل عرب (۸۵ اسب نر و ۶۷ اسب ماده) بود. همه اسب‌ها بین سال‌های ۲۰۱۵–۱۹۹۰ متولد شده بودند و میانگین سن آنها ۷/۳ سال برآورد شد. اطلاعات اسب هادر تبارنامه اسب عرب ثبت شده بود که از کانون اسب اصیل ایرانی مستقر در یزد دریافت شد. زمان انجام این تحقیق سال ۱۳۹۶ بود و اطلاعات لازم از باشگاه‌های پرورش اسب شهرستان اشکذر گردآوری شد. شهرستان اشکذر کانون پرورش اسب اصیل عرب می‌باشد.

شاخص‌های اندازه بدنی

در این مطالعه ارتفاع از جدوگاه، دور قفسه سینه و طول پا به وسیله متر پارچه‌ایی اندازه‌گیری شد. مرجع نحوه رکورد برداری و نحوه روش اندازه‌گیری مطابق استانداردهای فدراسیون سوارکاری و ترسیم اسکیج بود که توسط کارشناسان کانون اسب اصیل ایران در یزد پیشنهاد شد. همچنین هر اسب از نظر امتیاز دست و پا و سر و گردن نیز داوری گردید. امتیاز داوری بین صفر تا ۲۰بود. داور این تحقیق از کارشناسان با تجربه کانون اسب اصیل ایرانی مستقر در یزد بود.

تعیین ژنوتایپ اسنیپ BIEC2-808543

از بین ۱۵۲ اسب مورد مطالعه، ۱۴۱ رأس، خون‌گیری شدند. خون‌گیری پس از مقید کردن اسب با روش‌های رایج از سمت چپ و با استفاده از ونوجکت‌های وکیوم دارحاوی EDTA به میزان پنج سی سی از رگ گردن انجام گرفت. نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سیلسیوس در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی اشکذر نگه‌داری شد. DNA از نمونه‌های خون به وسیله کیت Gene All (شرکت GeneAll،کره جنوبی) بر اساس پروتکل شرکت سازنده استخراج شد. در نهایت میزان غلظت و کیفیت DNA توسط دستگاه نانودراپ سنجیده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و PCR-RFLP به منظور تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی از ژن LCORLدر این تحقیق با استفاده از پرایمرهای Forward و Reverse(ساخت شرکت ماکروژن، کره جنوبی) که توسط نرم افزار Primer 3 طراحی شده بود، انجام گرفت. از دستگاه ترموسایکلر

(ساخت شرکت انالایتیک آلمان) برای تکثیر قطعات و انجام PCRاستفاده گردید. حجم واکنش برای PCR، ۲۵میکرولیتر بود که شامل ۱۴میکرولیتر مسترمیکس[1] (از شرکت امپلیکون)، یک میکرولیتر از پرایمر Forward با توالی:

5'-TGGAGTCAGTTGGGTTTAATG-3'

و یک میکرولیتر از پرایمر Reverse با توالی:

5'-GACCGGATAGCATAGAGAGAG-3'

و نه میکرولیترآب استریل بود. چرخه‌های برنامه‌ی دمایی استفاده شده برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل ۹۴ درجه سیلسیوس جهت واسرشت[2] سازی اولیه به مدت پنج دقیقه به تعداد یک سیکل، دمای ۹۵ درجه سیلسیوس جهت واسرشت سازی ثانویه به مدت ۳۰ ثانیه و به تعداد ۳۰ سیکل، دمای ۵۷ درجه سیلسیوس جهت اتصال[3] پرایمرها به مدت ۳۰ ثانیه و به تعداد ۳۰ سیکل ، دمای ۷۲ درجه سیلسیوس برای طویل[4] سازی اولیه به مدت ۳۰ ثانیه به تعداد ۳۰ سیکل و در نهایت دمای ۷۲ درجه سیلسیوس برای طویل شدن نهایی در مدت پنج دقیقه به تعداد یک سیکل بود.

برای آزمون صحت قطعه بدست امده و همچنین تعیین کیفیت محصول PCR از ژل اگارز دو درصد به همراه نشانگر با طول ۵۰ جفت بازی استفاده گردید. تعیین ژنوتایپ BIEC2-808543 توسط PCR-RFLP به همراه انزیم محدود کننده Alu1 (شرکت سینا کلون) انجام گرفت. واکنش هضم آنزیمی در این تحقیق حجمی برابر ۲۱ میکرولیتر داشت که شامل چهار میکرولیتر محصول PCR، یک میکرولیتر آنزیم Alu1، دو میکرولیتر بافر و ۱۴ میکرولیتر آب استریل بود. ویال‌ها را داخل دستگاه انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد و بعد از اتمام زمان انکوباسیون، نمونه‌ها در دمای ۶۵ درجه سیلسیوسکه باعث غیر فعال شدن انزیم می‌شودگذاشته شد. در نهایت برای بررسی نتیجه واکنش، نمونه‌ها روی ژل آگارز دو درصد و با شاخص طول ۵۰ جفت بازی بررسی شد. برای تعیین آنزیم محدود-کننده مورد استفاده برای PCR-RFLP از نرم افزار Restriction Mapper (از سایت انلاین استفاده شد) استفاده شد.

آنالیزآماری

به منظور بررسی ارتباط ژنتیکی اسنیپ BIEC2-808543 با ارتفاع از جدوگاه، دور قفسه سینه و طول پا از مدل آماری رگرسیون خطی تعمیم یافته استفاده شد. با استفاده از نرم افزار R پکیج SNPassoc آنالیزهای آماری انجام شد. مقایسه میانگین شاخص‌ها بین دو دسته اسب کورس و غیر کورس با استفاده از آزمون ناپارامتری یومان–ویتنی انجام شد. به منظور بررسی تمایز ژنتیکی بین دو رده اسب کورس و زیبایی از آماره F_{st} استفاده شد. میزان F_{ST} نیز به وسیله نرم افزار FSTAT برآورد گردید (۱۴).

نتایج و بحث

تکثیر قطعه ۲۸٤ جفت بازی ژن LCORL و تعیین ژنوتیپ نمونه‌های تحقیق

در این بررسی، الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل اگارز دو درصد نشان داد که قطعه ۲۸۴ جفت بازی از ژن LCORL به خوبی و بدون هیچ گونه قطعه غیر اختصاصی تکثیر شده است. شکل ۲ محصول PCR را در تعداد چهار نمونه در کنار نشانگر اندازه‌گیری ۵۰جفت بازی نشان می‌دهد. در این تحقیق تکنیک PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در هنگام فعالیت آنزیم محدودکننده اگر در توالی تشخیص آنزیم تغییراتی ایجاد شود، هضم محصول PCR توسط آنزیم محدودکننده در آن منطقه صورت نمی‌گیرد. وجود یا عدم وجود جهش در جایگاه تشخیص انزیم محدودکننده را می‌توان از طریق ایجاد الگوهای قطعات مختلف تشخیص داد. در صورت عدم وقوع جهش بعد از بکارگیری آنزیم Alu1 قطعه ۲۸۴ جفت بازی حاصل از PCR برش نخورده و به طور کامل بر روی ژل ظاهر می‌شود که نشان دهنده ژنوتایپ TT است. در صورت وقوع جهش، قطعه ۲۸۴ جفت بازی توسط آنزیم Alu1 برش و بسته به این که ژنوتایپ CT باشد یا CC به ترتیب سه قطعه ۲۸۴و ۱۶۹ و ۱۱۵جفت بازی و دو قطعه ۲۸۴ و ۱۶۹جفت بازی بر روی ژل ظاهر می‌شود. از ۱۴۱ راس اسبی که نمونه خون از آنها گرفته شد، تنها یک اسب دارای ژنوتایپ CT بود و بقیه اسب ها ژنوتیپ TT داشتند. ژنوتایپ CC در بین هیچ کدام از نمونه‌ها شناسایی نشد. در شکل ۳، ژنوتیپ‌های شناسایی شده در ۲۲ نمونه از نمونه‌های این تحقیق مشخص شده است.

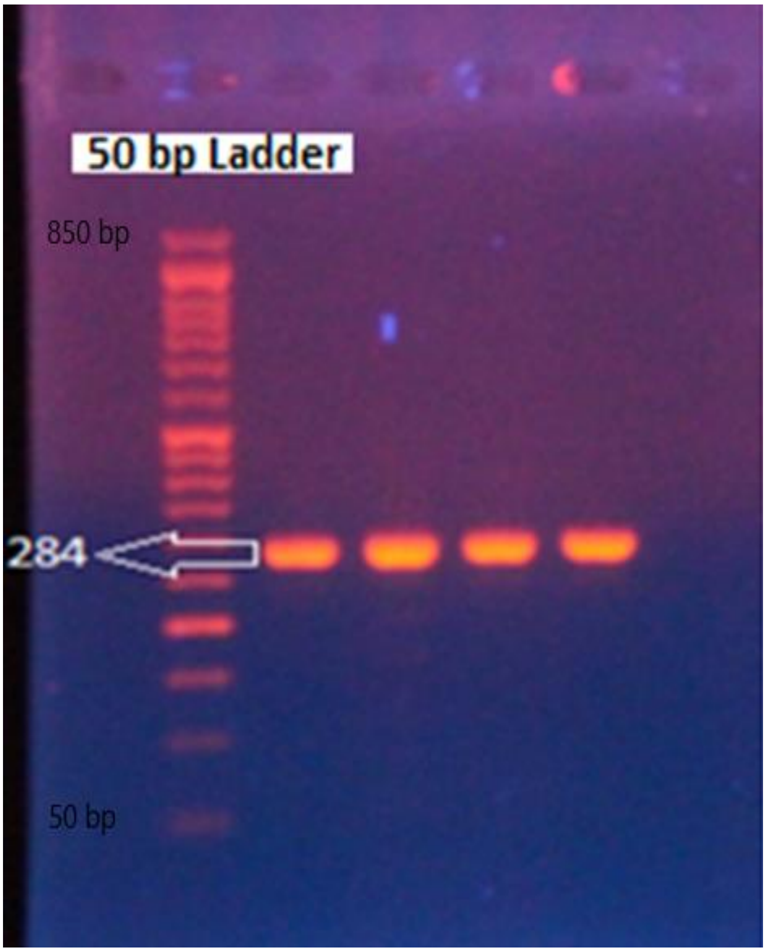
تنها اسبی که دارای ژنوتیپ CT بود، سیلمی (اسب نر مولد) با نام معراج مفیدیان بود که فرزند زلزله می‌باشد. در این تحقیق مشخص شد ۹۹/۲درصد از اسب‌های مورد مطالعه، دارای ژنوتیپ TT می باشند. نتایج نشان دهنده تثبیت آلل T در چند ریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543بر روی این ژن در اسب عرب ایرانی است.

نتایج بررسی تاثیر ژنوتیپ چندریختی تک نوکلئوتیدی BIEC2-808543 روی صفات مورد مطالعه در این تحقیق مطابق جدول ۲ می‌باشد که با توجه به تنها یک اسب دارای ژنوتیپ هتروزیگوت، اثر نشانگر مذکور روی هیچ دام از صفات معنی دار نشد.

سیلمی‌های مبارک و برفین بیشترین نتاج در نمونه‌های این تحقیق داشتند. مبارک اسبی با بدن جمع و جور، پاهای مناسب و حرکت فوق العاده‌ای است که برنده جوایز بسیاری حتی در زمان کره-

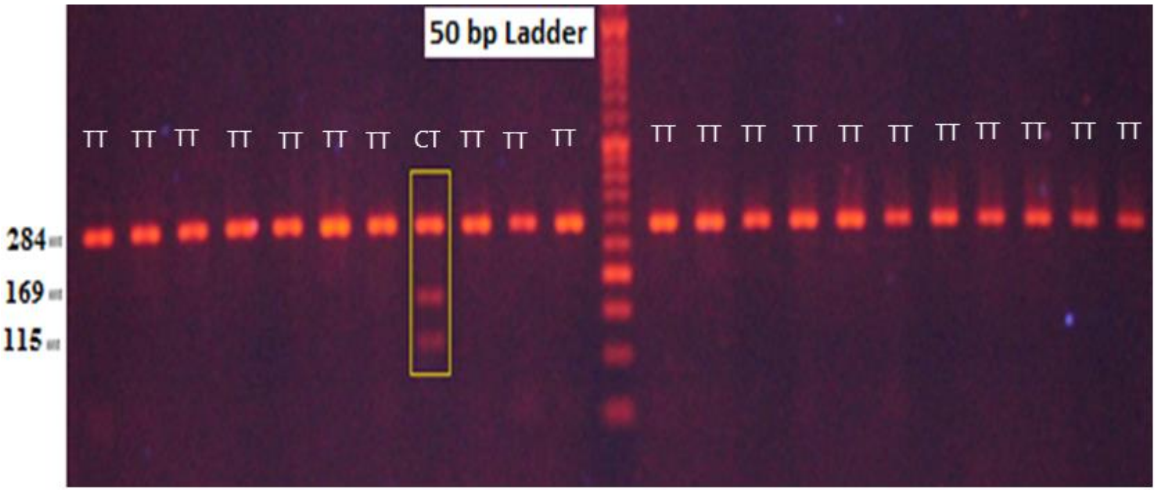
1-Master Mix
2-Denaturation
3-Annealing
4-Extention

گی در چندین مسابقات قهرمانی بود و به دلیل داشتن ویژگی‌های برتر نتایج زیادی از او گرفته شده است. یکی از این کره‌ها برفین است که برنده جایزه WAHO 2011 شده است. آمیزش‌های نژاد اصیل عرب اکثرا، درون نژادی می‌باشد.



شکل۲– محصول واکنش زنجیره ای پلی‌مراز ژن LCORL در کنار نشانگر ۵۰ جفت بازی

Figure 2- The PCR Product of LCORL gene and 50 bp DNA ladder



شکل۳–نتایج واکنش PCR-RFLP برای شناسایی ژنوتایپ‌های مختلف بر اساس انزیم برشی Alu1 در کناز نشانگر ۵۰ جفت بازی

Figure 3- PCR-RFLP results for genotyping by restricted enzyme Alu1 and 50 bp DNA ladder

جدول ۱– توزیع فراوانی ژنوتیپی اسنیپ BIEC2-808543در بین اسب های مورد مطالعه
Table 1- Genotype frequency of BIEC 2-808543 SNP

جنسیت Gender	ژنوتایپ Genotype TT	CT	CC
مادیان Female	59	0	0
سیلمی Male	81	1	0

جدول ۲– اثر ژنوتیپ BIEC2-808543 روی اندازه دور سینه، ارتفاع بدن و طول پا
Table 2- Effect of BIEC2-808543 genotypes on chest circumference, withers height and leg length

ژنوتیپ genotype	تعداد number	میانگین (سانتی متر) Mean: دور سیته chest circumference	ارتفاع بدن withers height	طول پا leg length	P-value: دور سینه chest circumference	ارتفاع بدن withers height	طول پا leg length	AIC[1]: دور سینه chest circumference	ارتفاع بدن withers height	طول پا leg length
TT	149	168.10	156.6	140.7	0.69	1	1	1136	1210	968.9
CT	1	175.0	150	140						

[1]Akaike information criterion

تحقیقـاتی بـر روی نـژادهـای تروبـرد (۱۲)، نـژاد Franches-Mantages (۱۰)، German Warmblood (۱۳) و نــــژاد Hanoverian (۷)، Tennessee Walking Horses (۱۱)، Myanmar(۸)، Icelandic (۴)و نـژاد Yili(۵) بـرای ارزیـابی اثـر BIEC2-808543 و ارتباط آن باانـدازه بـدنی شـامل وزن، ارتفـاع از جدوگاه، استخوان کانن (Cannon)، دور قفسه سـینه صـورت گرفتـه است. همچنین مشخص شد کـه اسـبهـای دارای هموزیگـوت CC ارتفاع جدوگاه و استخوان کانن بلندتری نسبت به هتروزیگـوت CT و هموزیگـوت TT دارنـد (12). اسـبهـای هتروزیگـوت CT نسـبت هموزیگوت TT دارای ارتفـاع جـدوگاه و اسـتخوان کـانن بلنـدتـری هستند. طی تحقیقات انجام شده روی اسبهای تروبرد مشخص شـد ارتفـاع از جـدوگاه در ژنوتایـپ CT در مقایسـه بـا TT بلنـدتر اسـت (12).در این تحقیق ما از معیار اکاییک (AIC) استفاده کردیم که این معیاری برای سنجش نیکویی برازش است. کمترین مقدار ایـن معیـار برای مدلی بود که در آن طول پا ارزیابی شد.

جدول ۳ – مقایسه توزیع فروانی ژنوتیپی پلیمورفیسم BIEC2-80543 بین نژادهای تروبرد، عرب، هانوورین و Yili
Table 3- Genotype frequency of BIEC2-80543 SNP in Thoroughbred, Arab, Hanoverian, and Yili, breeds

نژاد Breed	جنسیت Gender	ژنوتیپ Genotype CC	CT	TT
عرب (تحقیق حاضر) Arab (current study)	مادیان Female	0.0000	0.0000	1.0000
	سیلمی Male	0.0000	0.0120	0.9880
تروبرد Thoroughbred	مادیان Female	0.0100	0.1800	0.8100
	سیلمی Male	0.0000	0.1500	0.8500
ییلی Yili	-	0.0287	0.2866	0.6847
هانوورین Hanoverian	-	0.2617	0.5748	0.1636

جدول٤– مقایسه میانگین امتیازات زیبایی دست و پا، گردن و سر در بین اسب‌های مورد مطالعه
Table 4- The average score beauty of hand and legs, neck, and head in studied horses (centimeter)

نوع کاربری اسب Horse	تعداد Number	دست وپا Hand and Legs	گردن Neck	سر Head
غیر کورس (زیبایی) Show	97	16.79± 0.77	17.51± 0.83	16.96± 1.003
کورس Race	44	16.93± 1.17	16.79± 0.81	16.72± 1.03
Mann-Whitney U		2004.50	2266.00	2307.00
P value		0.12	0.70	0.83

جدول۵– مقایسه میانگین دور سینه، طول پا و ارتفاع بدن در بین اسب‌های مورد مطالعه (سانتی متر)
Table 5- The average of withers height, chest circumference and leg length in studied horses (cm)

نوع کاربری اسب Horse	تعداد Number	دور سینه chest circumference	ارتفاع بدن withers height	طول پا leg length
غیر کورس (زیبایی) Show	97	166.74± 10.66	156.40±20.33	140.42± 5.90
کورس Race	44	171.62± 9.33	153.20± 8.98	141.40± 6.38
Mann-Whitney U		1573.000	1888.500	2036.000
P value		0.001	0.056	0.26

در مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۶ نیز در نژاد تروبرد مشخص شد که به جز یک اسب ماده که دارای ژنوتیپ CC بود و تعداد اندکی از اسب‌ها که CT بودند بقیه اسب‌های دارای ژنوتیپ TT بودند (۱۲). فراوانی الل C در نژاد تروبرد بیشتر از نژاد عرب است که این موید اصلاح نژاد این اسب در خصوص ارتفاع قد و ژن LCORLمی‌باشد. در اسب‌های تروبرد دارای الل C، میانگین ارتفاع بدن بیشتر از ژنوتایپ TT است. مطابق جدول ۲، یک درصد از اسب های نژاد تروبرد، دارای ژنوتیپ CC هستند. همچنین ۱۸ درصد از مادیان‌ها و ۱۵ درصد از سیلمی‌ها هتروزیگوت هستند (۱۲). ولی در نژاد اسب عرب، فراوانی الل C بسیار کم بوده، به طوری که ژنوتیپ CCمشاهده نشد و تنها یکی از اسب‌ها، دارای ژنوتیپ CT بود. طبق بررسی‌های انجام شده میانگین قد اسب‌های عرب از نژاد تروبرد کوتاه‌تر است. به طور مثال، ارتفاع از جدوگاه در اسب‌های مسابقه‌ای قدیمی و همچنین دارلی عرب حدود ۱۵۲ سانتی‌متر در منابع گزارش شده است (۱۱) در حالی که برای تروبرد ارتفاع بدن حدود ۱۶۰/۵ سانتی‌متر است (۱۲). نتایج تحقیقات حاکی از تاثیر ژن LCORL بر اندازه و چارچوب اسکلتی بدن اسب است و از این رو به طور غیر مستقیم بر وزن بدن نیز موثر است. تروبرد نژادی توسعه یافته در قرن ۱۸ است، اصل و نسب تروبرد به تعداد کمی از اسب‌های عرب و مهاجران بومی انگلیسی در حدود ۳۰۰ سال پیش می‌رسد (9).تروبردها نسبت به اجدادشان بدن بزرگتری دارند. این ژن بر روی کروموزوم ۱۸ می‌باشد و با ویژگی‌های عضله و توانایی در مسابقات مرتبط است (۹). این ژن متعلق به ابر خانواده TGF-B[1] بوده که در میزان رشد ماهیچه‌ها در پستانداران نقش دارد و باعث افزایش وزن میگردد (۱). در این تحقیق بین امتیازات داوری مربوط به دست و پا، سر و گردن دو رده کورس و زیبایی اختلاف معنی داری وجود نداشت. در این تحقیق آماره تتا به منظور محاسبه F_{ST} بین اسب‌های کورس و زیبایی محاسبه شد که مقدار بسیار جزئی آن (۰/۰۰۵) حاکی از عدم تنوع ژنتیکی در دو گروه کورس و زیبایی در اسنیپ می‌باشد.

دور قفسه سینه در اسب‌های کورس بیشتر از اسب‌های غیر کورس ($p<0.01$) بود به طوری که دور قفسه سینه در اسب‌های کورس و غیر کورس به ترتیب ۱۷۷/۶۲ و ۱۶۶/۷۵ بود. تفاوت معنی داری بین ارتفاع از جدوگاه و طول پا بین دو گروه کورس و غیر کورس وجود نداشت. همچنین امتیازهای داوری بین دو گروه کورس

1– Transforming Growth Factor Beta

و غیر کورس هم اختلاف معنی داری نداشت.

نتیجه گیری

الل T در چنـد ریختـی تـک نوکلئوتیـدی BIEC2-808543 در اسب‌های اصیل عرب ثبیت شده است. اسب‌های رده کورس به دلیـل طی کردن مسافت‌های کوتاه دارای قفسه سینه بزرگتری هستند.

سپاسگزاری

از کانون اسب اصیل ایرانی مستقر در یزد به دلیل هماهنگی برای گرفتن نمونه از اسب‌ها در این مطالعه تشکر می‌شود.

منابع

1- Baron, E., M. Lopes, D. Mendonca, and A. da Câmara Machado. 2012. SNP identification and polymorphism analysis in exon 2 of the horse myostatin gene. Animal Genetics, 43(2), 229-232.

2- Bruce, A., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. 2002. Molecular Biology of the Cell, 4th edition. New York: Garland Science. ISBN-10: 0-8153-3218-1ISBN-10: 0-8153-4072-9.

3- Felt, V. 2016. Genetic analysis of conformation traits in Icelandic horses with a focus on head morphology and body length.

4- Frischknecht, M., V. Jagannathan, P. Platte, M. Neuditschko, H. Signer-Hasler, I. Bachmann, and C. Flury. 2015. A non-synonymous HMGA2 variant decreases height in Shetland ponies and other small horses. PloS one, 10(10), e0140749.

5- He, S., L. Zhang, W. Li, and M. Liu. 2015. BIEC2-808543 SNP in the LCORL gene is associated with body conformation in the Yili horse. Animal biotechnology. 26(4),289-291.6- Makvandi-Nejad, S., et al. 2012. Four Loci Explain 83% of Size Variation in the Horse. PLoS ONE, 7(7): p. e39929.

7- Metzger, J., et al. 2013. Expression levels of LCORL are associated with body size in horses. PLoS One, 8(2): p. e56497.

8- Okuda, Y., H. H. Moe, K. K. Moe, Y. Shimizu, K. Nishioka, T. Shimogiri, and T. Kunieda. (2017). Genotype distribution and allele frequencies of the genes associated with body composition and locomotion traits in Myanmar native horses. Animal Science Journal, 88(8), 1198-1203.

9- Petersen, J. L., J. R. Mickelson, A. K. Rendahl, S. J. Valberg, L. S. Andersson, J. Axelsson, and A. S. Borges. 2013. Genome-wide analysis reveals selection for important traits in domestic horse breeds.PLoS Genetics, 9(1), e1003211.

10- Signer-Hasler, H., et al. 2013. A genome-wide association study reveals loci influencing height and other conformation traits in horses. PLoS One, 7(5): p. e37282.

11- Staiger, E. A., M. Al Abri, K. M. Pflug, S. Kalla, D. Ainsworth, D. Miller, and S. A. Brooks. 2016. Skeletal variation in Tennessee Walking Horses maps to the LCORL/NCAPG gene region. Physiological Genomics, 48(5), 325-335.

12- Tetens, J., P. Widmann, C. Kühn, and G. Thaller. 2013. A genome-wide association study indicatesLCORL/NCAPG as a candidate locus for withers height in German Warmblood horses. AnimalGenetics, 44(4), 467-471.

13- Tozaki, T., et al. 2016. Sequence variants of BIEC2-808543 near LCORL are associated with body composition in Thoroughbreds under training. Journal of Equine Science, 27(3): p. 107.

14- Weir, Bruce S., and C. Clark Cockerham. 1984. "Estimating F-statistics for the analysis of population structure." Evolution, 38(6):1358-1370.

Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 12, No. 1, Spring 2020, p. 125-133

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد ۱۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۹، ص. ۱۳۳-۱۲۵

Effect of BIEC2-808543 Near *LCORL* on Body Size of Iranian Arab horse

Z. Abrishami-Moghaddam[1], S. M .Miresmaeli [2], M. Bitaraf Sani [3*] and S. M. Seifati [4]
Received: 02-02-2019
Accepted: 25-06-2019

Introduction:

Body size is one of the main features for the classification of horses. Among these features, the length of the body is one of the aspects that considered essential for animal's nutrition and height at withers applies for intra-species separating. Genome Wide Association Studies have demonstrated *LCORL* gene code a transcription factor that those polymorphisms are associated with skeletal frame size and body length. Recently, *BIEC2-808543 SNP* located upstream of *LCORL* was identified as a genetic diagnostic marker associated with withers height and also the length of Cannon bone in Thoroughbred horses. *BIEC2-808543* is This SNP effect on TFIID binding site in TATA box. The substitution of C to T allele causes changes affinity of TFIID to TATA box. because of this is the effect on indicating TFIID by a pro-motor nuclear element which is the first step in mRNA transcription and in result effects on other transcription factors of bone-like AP-1, activator protein-1 transcription factor complex, AP-1 is activated as one complex of mRNA and subsequently transcription get higher. On the other words, skeletal bones are expanded by three chondrocytes, osteoblasts and osteoclasts cells. The difference and performances of these cells are regulated by some special factors that are effective on gene expression.

Near the *LCORL* gene in chromosome 3, there is a QTL which is associated with height at withers, composition of legs, length of horse' s rump, head and jaw of the horse. The purpose of this research was studying of genotype and allele frequency of *BIEC2-808543* and its relationship with body size in Iranian Arab horse.

Materials and methods:

A total of 152 (85 males and 67 females) Iranian Arab horses were used in this study. All horses were born between 1990–2015, and the mean of age was 7.3 years. All horse's data were registered at WAHO and was get from Yazd Arabic Horseshoe. The time of this research was 1396 and the information was gathered from horse breeding clubs in the city of Ashkezar. The city of Ashkezar is the center of Arabic horse breeding. Measurements included withers height (cm), chest circumference (cm), and leg length. Also, each horse was judged as view of foot, head and neck and score of 0-20 was registered. The referee of this research was experienced experts in the Iranian horses' club located in Yazd. Blood samples were collected from 141 animals and in the molecular genetic laboratory of Islamic Azad University of Ashkezar stored at −20°C. Genomic DNA was extracted by Gene All kit (Company Gene All, South Korea) according to the manufacturer’s protocol. We used Thermocycler for PCR and duplication fragments. The volume of the reaction was 25 µl including 14 µl master mix, 1 µl forward, 1 µl reverse, 9µl water. Genotyping for *BIEC2-808543* was performed using by PCR-RFLP by Alu1 (Company Sina Clone) restriction enzyme. primer designing was applied primer 3 software and the Restriction Mapper software (Online site was used) for PCR was used to distinct the used restriction enzyme. Forward primer sequence has TGGAGTCAGTTGGGTTTAATG and Reverse primer sequence has GACCGGATAGCATAGAGAGAG. Genetic association analysis for withers height, chest circumference, leg length, and judgment scores were performed using SNPassoc package (R software). compare mean between race and show horse was performed using Non-parametric mann-whitneyU. Weir&Cocker ham'sFst was estimated by FSTAT software.

1- Master science of Genetics, Science and Arts University, Yazd, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, Science and Arts University, Yazd, Iran
3- Author corresponding: Assistant Professor, Animal Science Research Department, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Yazd, Iran
4- Assistant Professor, Medical Biotechnology Research Center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran
(*- Corresponding Author Email: m.bitaraf@areeo.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v12i1.78988

Results and discussion:

Results of Genotyping of *BIEC2-808543 SNP* showed that one of the horses with the name of Meraj Mofidian (father name: Zelzeleh) is CT. The others were TT genotype. In this study 99/2% of horses had the TT genotype. Results represent fixation of T allele of *BIEC2-808543 SNP* on this gene in Iranian Arab horses. There was no significant difference between scores in three aspects, hands, legs, head and neck of show and race horses. Also, Genotype frequency of *BIEC2-80543 SNP* of show and race horse was similar. Estimated FST between race and show horses was tiny amount (-0.005) and show no genetic difference of *LCORL* gene between two groups. Though there was no significant difference of withers height, and leg length and judgment scores between race and show groups.

Conclusion:

Allele T in *BIEC2-808543* polymorphism in Iranian Arab horse stabilization and approves endurance of this breed. Race Iranian Arab horse have bigger Chest circumference because of racing in short distances.

Keywords: Arab horse, BIEC2_808543 SNP, Body size, LCORL